



Universidad Abierta
Interamericana

**ESTUDIO CLINICO CON ADMINISTRACIÓN
DE MÉDULA ÓSEA AUTÓLOGA NO
FRACCIONADA VÍA INTRARTERIAL EN
PACIENTES CON ARTERIOPATÍA
PERIFÉRICA SEVERA.**

Vicario Diego
Tutor Dr. Carlos Bier

Introducción

Material y Método

- Tipo de estudio
- Criterios de Inclusión y Exclusión
- Procedimiento
 - *Médula Ósea
 - *Ruta de Administración
- Parámetros Evaluados
 - *Clínicos
 - *Necesidad de Amputación
 - *Índice Tobillo/Brazo de reposo
 - *Angiografía con Substracción Digital
 - *Biopsia de piel
- Tolerancia y Seguridad
- Análisis Estadístico

Resultados

- Características Clínicas y Datos Demográficos
- Seguimiento
 - *Pacientes con Amputación Mayor
 - *Pacientes sin Amputación Mayor - Seguimiento
 - Estadios de Clasificación de Fontaine
 - Lesiones Tróficas
 - Dolor de Reposo
 - Índice Tobillo/Brazo de reposo
 - Angiografía con substracción Digital
 - Biopsia de Piel
- Tolerancia y Seguridad

Discusión y Conclusiones

Tabla y Figuras

Agradecimiento

Bibliografía

INTRODUCCIÓN

La arteriopatía periférica es una manifestación común de arteriosclerosis y su prevalencia se incrementa con la presencia de factores de riesgo cardiovascular y la edad (1). De los factores de riesgo los más importantes son la diabetes y el tabaco. Así, el 80% de los pacientes con arteriopatía periférica son o fueron fumadores. La hipertensión, dislipidemia e hiperhomocistinemia son otros de los factores de riesgo asociados a la arteriopatía periférica (2-3).

La mayor parte de los pacientes son asintomáticos con hallazgos positivos en el examen físico como pulso disminuido, soplos o Índice Tobillo/Brazo (IT/B) anormal y, de acuerdo al grado de la limitación al flujo arterial, se presenta con cuadros clínicos de fatiga o pesadez en los miembros inferiores al esfuerzo, claudicación intermitente e isquemia crítica con dolor de reposo, úlceras isquémicas, lesiones tróficas y gangrena.

El resultado más dramático de la enfermedad es la amputación mayor, la cual se asocia a un alto costo en salud y a un incremento en la mortalidad tanto en diabéticos como no-diabéticos (4-8). Se reconoce como riesgo de amputación mayor a la diabetes y su duración. La diabetes es responsable del 50% de las amputaciones no traumáticas en el mundo (10-14), con una incidencia anual de 550 amputaciones/100.000 habitantes y una mortalidad posterior a la amputación del 11% a los 30 días y del 32% al año (15). Los pacientes sin opción de revascularización convencional, lesiones calcáneas, linfangitis ascendente y lesiones tróficas con cultivos a Gram + también presentan un riesgo aumentado de amputación mayor (9).

El tratamiento de la enfermedad arterial periférica se basa en farmacoterapia (drogas vasoactivas, antiagregantes, anticoagulante), programa de ejercicios, corrección agresiva de los factores de riesgo (hipertensión, diabetes, consumo de tabaco, dislipidemia, estados pre-trombóticos), angioplastia con balón/stent y la reconstrucción quirúrgica con by-pass periférico.

A pesar de los avances observados en el tratamiento con drogas, en la técnica quirúrgica y endovascular, un grupo de pacientes no se benefician con el tratamiento convencional debido a la presencia de oclusiones largas y/o a la

ausencia de lecho distal adecuado. Por este motivo, la comunidad médica se ha interesado en estudiar e investigar los mecanismos necesarios para promover y estimular el desarrollo de nuevos vasos colaterales en tejidos con perfusión tisular inadecuada, proceso conocido como Angiogénesis.

Un grupo multidisciplinario de profesionales del Sanatorio Garay, Hospital Iturraspe y Universidad Nacional del Litoral de la ciudad de Santa Fé han estado involucrados ,desde hace varios años, en la investigación de angiogénesis con médula ósea autóloga no fraccionada.

Cumpliendo con los requisitos de seguridad necesarios para pasar de un estudio experimental a la clínica, se diseñó un protocolo de administración intra-arterial de médula ósea autóloga no fraccionada en pacientes con arteriopatía periférica severa sin opción de revascularización convencional, con el objetivo de estimular el desarrollo de circulación colateral y mejorar la refusión tisular, siendo el punto final primario evaluar seguridad, tolerancia y factibilidad del procedimiento.

El protocolo fue aprobado por el Comité de Docencia e Investigación de los centros participantes y de acuerdo a la declaración de Helsinki de 1975 (revisada en 1988) para la realización de estudios en humanos. Consentimiento firmado fue obtenido en todos los pacientes involucrados en el estudio.

MATERIAL Y MÉTODO

Tipo de estudio:

Retrospectivo con recolección de datos de 34 pacientes con arteriopatía periférica involucrados en el estudio durante el período de Diciembre del 2003 a Diciembre del 2007.

Criterios de inclusión y exclusión:

Los posibles candidatos al protocolo fueron evaluados con historia clínica, arteriografía periférica, Índice Tobillo/Brazo e ínter consulta con los Servicios de Cirugía Vascular, Hemodinamia y fueron aceptados de acuerdo a los siguientes criterios de Inclusión: 1- Arteriopatía periférica severa sin opción de

revascularización determinada por Cirugía Vascul ar y Hemodinamia 2- Índice Tobillo/Brazo de reposo <0,60 3- Cuadro clínico de: A)-claudicación limitante (menos de 100 mts.) B)- isquemia crítica con lesiones tróficas (úlceras isquémicas y/o necrosis de dedos) de lenta o sin resolución con tratamiento convencional C)- isquemia crítica con lesiones tróficas (úlceras isquémicas y/o necrosis de dedos) e indicación de amputación mayor por el Servicio de Cirugía Vascul ar.

Criterios de Exclusión: enfermedad hematológica linfoproliferativa, anemia, mielofibrosis, enfermedad sistémica en actividad, gangrena con compromiso sistémico.

Procedimiento:

Médula ósea: fue aspirada bajo anestesia local de la cresta iliaca posterosuperior obteniéndose un volumen de 120ml, anticoagulada con heparina sódica (50UI/ml) y filtrada con filtros de 200 y 500 μ (Bone Marrow Collection Kits de Baxter, IL, USA). La médula ósea obtenida fue morfológicamente evaluada con determinaciones de viabilidad, ausencia de coágulos o porciones óseas. Se determinó una celularidad superior a $0.04 \cdot 10^8/\text{Kg}$. como adecuada.

Ruta de Administración: la arteria y vena femoral del miembro inferior comprometido, fueron cateterizadas con introductores Cordis de 6F y 7F respectivamente. La médula ósea no fraccionada, filtrada y fresca fue administrada a través del introductor arterial a una dosis de 120ml. Previa a su administración y con el objetivo de disminuir el retorno venoso, la vena ilíaca externa fue ocluida por debajo del origen la vena iliaca interna, con un catéter balón de 7-10/20mm, manteniéndose la oclusión durante 20 minutos (Fig. 1).

Parámetros evaluados:

Clínicos: evaluación clínica basal previa al tratamiento y durante el seguimiento a 1, 3, 6, 12 y 24 meses. Se evaluaron los siguientes parámetros clínicos:

- Estadío de acuerdo a la clasificación de Fontaine basal y seguimiento
- Presencia de dolor de reposo y respuesta al tratamiento. Se consideró como dolor de reposo a su presencia en decúbito dorsal.

- Lesiones tróficas representada por úlceras isquémicas, necrosis de tejidos y dedos se las consideró en el seguimiento como Mejor ante la presencia de cicatrización, Igual sin cambios o Peor con mayor extensión. Se realizó en el seguimiento, tratamiento médico intensivo local de las lesiones, antibióticoterapia según necesidad y tratamiento quirúrgico local con debridación de tejido necrótico y dedos de ser necesario.

Necesidad de amputación: la necesidad de amputación se tuvo en cuenta considerándose como una amputación menor cuando es a nivel de dedos, metatarso o mitad del pie y amputación mayor a nivel suprapatelar.

Índice Tobillo/Brazo de reposo (IT/B): fue obtenido en forma basal previo al tratamiento y repetido en el seguimiento a 1, 3, 6, 12 y 24 meses. Fue obtenido de reposo y los pacientes con más de una determinación durante el seguimiento se determino un promedio considerándolo como el valor de seguimiento y comparativo con el basal.

Angiografía con substracción digital: se realizó angiografía basal, previa a la administración de medula ósea, se determinó una distancia tubo-intensificador que se mantuvo constante en las angiografías de seguimiento a 1, 12 y 24 meses. Los parámetros evaluados incluyen: cantidad de oclusiones y obstrucciones de más del 75%, circulación colateral asignándola como pobre/importante y se determinó un score angiográfico basados en publicaciones previas de otros autores (16). El score se establece asignando valores a la presencia de obstrucciones y oclusiones en los diferentes territorios arteriales: ilíaco, femoral, poplíteo y tibial. Así, un valor de 0 corresponde a obstrucciones menores del 50%, 1 a obstrucciones del 50-75%, 2 a obstrucciones del 75-99% y 3 a las oclusiones. La presencia de arteria no visualizada previamente o mayor circulación colateral fueron los parámetros considerados en el seguimiento para determinar si la angiografía estaba Mejor, Igual o Peor.

Biopsia de piel: en 10 pacientes, previo al tratamiento se realizó biopsia de piel del miembro inferior comprometido repitiéndose a los 30 días del seguimiento. Se realizaron estudios histomorfológico e inmunohistoquímico con determinación de CD31. Los cortes histológicos de biopsias fueron montados en portaobjetos

pretratados con 3-aminopropyltriethoxysilane (No A-3648 Sigma). Se utilizó un anticuerpo monoclonal anti CD31 de Laboratorios DAKO (Cat. NO. N1596). Se reveló su localización a través de un anticuerpo secundario biotinilado y el complejo estreptoavidina-peroxidasa [Histostain ® -SP (Peroxidase) Bulk Kits (Mouse) -Zymed CAT. NO. 85-6643B], utilizando 3,3' diaminobencidina (Liquid DAB-Plus Substrate Kit Zymed CAT. NO. 00-2020) como cromógeno. Este anticuerpo reacciona con una glicoproteína de 100 kDa en las células endoteliales. En el caso de la biopsia de piel se demostrarían esas células en el tejido.

Tolerancia y seguridad:

Parámetros de tolerancia hemodinámica y clínica fueron evaluados durante el procedimiento de obtención y administración de la medula ósea. Se tuvo en cuenta, la presencia de nuevos síntomas o signos durante el procedimiento y la internación. Se realizó angiografía previa a la administración de medula ósea y se repitió al finalizar el procedimiento con el objetivo de evaluar la circulación arterial. Se realizó análisis de laboratorio de rutina previo y 24 hs posterior a la administración de médula ósea. En el seguimiento se determinó mortalidad y su causa.

Análisis Estadístico:

Se determinó media, promedio con desvío standard. Se realizó análisis de "t" para muestras pareadas y análisis de ANOVA, seguido por el post-test Ducan para determinar diferencias en el porcentaje de mejoría entre los grupos. Un valor de $p < 0.05$ fue considerado significativo.

RESULTADOS

Características Clínicas y Datos Demográficos:

Los datos demográficos y características clínicas de la población general y por grupos se presentan en Tabla 1 y 2.

La población total de 34 pacientes fue dividida en 3 grupos de acuerdo a los criterios clínicos de inclusión:

- Grupo A: pacientes con claudicación limitante (4/34 pacientes).
- Grupo B: pacientes con lesiones tróficas de lenta o sin resolución con tratamiento convencional y sin indicación de amputación mayor (12/34 pacientes).
- Grupo C: pacientes con lesiones tróficas que tenían indicación de amputación mayor por el Servicio de Cirugía Vascular (18/34 pacientes).

Del análisis de los datos demográficos y características clínicas se observó que el 32% de los pacientes tenían procedimientos previos no exitosos de angioplastia y/o cirugía. En la población general se observa una alta incidencia de pacientes diabéticos (73%) especialmente diabético tipo 2 19/34 (76%) y de pacientes con hipertensión arterial 19/34 (76%). El IT/B de reposo promedio fue de 0.45 +/- 0.15, la angiografía identificó una población con muchas obstrucciones y oclusiones con un score de angiográfico de 10.5 +/- 2 y circulación colateral pobremente desarrollada en el 58% de los pacientes. La mayoría de los pacientes pertenecían al estadio IV de la clasificación de Fontaine 29/34 (85%) y todos los pacientes del grupo B y C tenían dolor de reposo y lesiones tróficas. Comparando los 3 grupos se observa que el Grupo C es una población con mayor incidencia de factores de riesgo, con enfermedad arterial más severa, con el score angiográfico más alto e IT/B de reposo más bajo.

Seguimiento:

De los 34 pacientes, amputación mayor fue necesaria en 10/34 (29%) siendo realizada 0.23 +/- 3.1 meses después del tratamiento. El resto de los pacientes 24/34 (70%) no requirieron amputación mayor con un seguimiento de 18 +/- 13.5 meses.

- Pacientes con amputación mayor

La mayor frecuencia de amputación ocurrió en los pacientes del grupo C 9/10 pacientes, grupo que tenían indicación de amputación mayor previa al tratamiento (Fig. 2). Los 10 pacientes pertenecían al estadio IV de la clasificación de Fontaine

y solamente un paciente mejoró a estadio III siendo amputado a los 6 meses del tratamiento por empeoramiento de la lesión trófica (Fig. 3). De los 10 pacientes amputados 9 padecían dolor de reposo con mejoría solamente en 1 y los 10 tenían lesiones tróficas con mejoría en 2 persistiendo igual en 8 pacientes. El IT/B basal de 0.26 ± 0.10 mostró en el seguimiento un incremento no significativo a 0.28 ± 0.13 observándose un porcentaje de mejoría del 8%(Fig. 4), En la angiografía basal se obtuvo un score angiográfico alto de 11 ± 1 .

- Pacientes sin Amputación mayor

Estadio clasificación de Fontaine:

Una mejoría en el estadio clínico de acuerdo a la clasificación de Fontaine fue observada en los 3 grupos siendo del 100% en los pacientes del grupo A, 90% en grupo B y 88% en el grupo C (Fig. 5).

Lesiones Tróficas:

Las lesiones tróficas representadas por úlceras isquémicas y/o necrosis de dedos fueron observadas en el 100% de los pacientes del grupo B y C (20 pacientes). Tratamiento medico local de las lesiones se realizó en todos los pacientes y debridación quirúrgica de tejido necrótico con amputación limitada en dedos fue necesaria en 6/20 pacientes. Mejoría significativa de las lesiones con cicatrización fue observada, en el 81% de los pacientes del grupo B y 88% del grupo C (Fig. 6) No se observó empeoramiento de las lesiones en ninguno de los pacientes tratados. Ejemplos del tratamiento (Fig. 7,8, 9.)

Dolor de reposo:

Dolor de reposo se observó en 10/11 pacientes del grupo B y el 8/9 pacientes del grupo C. Mejoría significativa del 100% se observó en el seguimiento en todos los pacientes (Fig. 10).

IT/B de reposo:

Incrementos significativos en el IT/B de seguimiento fueron observados tanto en la población general como en los 3 grupos. En la población general de basal 0.45 ± 0.15 a 0.56 ± 0.22 (Fig. 11). En el grupo A de basal 0.43 ± 0.13 a 0.67 ± 0.17 ($p<0.05$) con porcentaje de mejoría del 33%, grupo B de basal 0.50 ± 0.10 a 0.63 ± 0.14 ($p<0.001$) con porcentaje de mejoría del 21%, grupo C de basal $0.57\pm$

0.07 a 0.71 \pm 0.13 ($p < 0.01$) con porcentaje de mejoría del 20% (Fig. 12, 13,14). El porcentaje de mejoría del grupo A fue significativamente mayor ($p < 0.05$) que la de los grupo B y C (Fig.15)

Angiografía con substracción digital:

La angiografía basal previa a la administración de médula ósea mostró un score angiográfico alto, indicativo de la presencia de obstrucciones y/o oclusiones, siendo el score más alto en el grupo C (Fig.16). En la arteriografía de seguimiento se consideró como mejor al incremento de la circulación colateral o apertura de arteria no visualizada previamente (Fig.17). En 12/24 (50%) pacientes se observó mejoría, siendo igual en 11/24 y en 1 paciente se observó empeoramiento (Fig.18).

Biopsia de piel:

Hallazgos histomorfológicos característicos de isquemia crónica sin evidencia de vasculatura arterial fueron observados en las biopsias de piel obtenida antes del tratamiento. En las biopsias de seguimiento, a los 30 días, en los 10 pacientes se observó un incremento en la microvasculatura (neoformación vascular) con estudios inmunohistoquímico de CD31 +, indicativo de células progenitoras endoteliales en los vasos neoformados (Fig. 19).

Tolerancia y Seguridad:

No se observó cambios hemodinámicos significativos durante el procedimiento ni la presencia de nuevos síntomas o signos. En la angiografía realizada posterior a la administración de médula ósea, no se observó deterioro de la circulación, trombosis o embolismo periférico. Los análisis de laboratorio posteriores a la administración de medula ósea no mostraron cambios con respecto a los previos. El periodo de internación fue de 24 \pm 3 hs. En el seguimiento se registró mortalidad en 4 pacientes (11%). Las causas de mortalidad se relacionaron a:

- Infarto agudo de miocardio en postoperatorio inmediato de amputación mayor.
- Paciente en diálisis crónica con Infarto agudo de miocardio. Mortalidad a los 6 meses del tratamiento.

- Insuficiencia cardíaca refractaria. Mortalidad a 1 año y 6 meses del tratamiento.
- Septicemia en postoperatorio inmediato de cirugía de revascularización miocárdica. Mortalidad a los 7 meses del tratamiento.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Se les solicitó a los investigadores que explicaran el motivo por elegir a la médula ósea adulta no fraccionada como agente biológico:

Resultados de estudios preclínicos en animales pequeños, han demostrado que la administración de factores de crecimiento vascular como el aFGF, bFGF, VEGF y de genes estimulan el crecimiento de vasos sanguíneos en tejido isquémico (17). Así mismo, se postula que debido a la complejidad del proceso natural del desarrollo de vasos colaterales, la administración de un solo factor de crecimiento o la terapia con genes puede constituir un estímulo subóptimo para el desarrollo de vasos colaterales. También, su administración ha generado preocupación de seguridad, como la posibilidad de producir angiogénesis no deseada en tumores ocultos, efectos adversos sobre el riñón y la placa de ateroma (18). Una estrategia basada en la administración de células de la médula ósea adulta parecería ser más lógica, ya que sus células progenitoras endoteliales segregan múltiples factores de crecimiento en tiempo y concentración adecuada para estimular el crecimiento de nuevos vasos colaterales. Estudios preclínicos en cerdos con injuria miocárdica y en pacientes con angina crónica refractaria, fueron realizados por los investigadores con publicaciones a nivel nacional e internacional demostrando seguridad, tolerancia y eficacia potencial con la administración de médula ósea autóloga no fraccionada en el tejido isquémico (19-21). Teniendo en cuenta el efecto biológico positivo observado con la médula ósea no fraccionada, se trasladó la experiencia a pacientes con arteriopatía periférica severa.

También fueron interrogados “porque” la ruta intraarterial con oclusión venosa transitoria, como método de liberación del agente biológico. Si bien, numerosos estudios clínicos en pacientes con arteriopatía periférica sin opción de revascularización han demostrado seguridad, tolerancia y eficacia terapéutica con la administración intramuscular de células mononucleares CD34+ (22-25), los

investigadores prefirieron la ruta intraarterial directa con el propósito de poder administrar mayor volumen de medula ósea no fraccionada (120ml). El motivo de ocluir la vena ilíaca externa, en forma transitoria, fue evitar un pasaje y lavado rápido de las células de la medula ósea, teniendo en cuenta que el 70% del retorno venoso ocurre a través del sistema venoso profundo.

Del análisis de los datos obtenidos se observa que la población tratada la mayoría fueron pacientes diabéticos, con isquemia crítica, sin opción de revascularización, con lesiones tróficas, IT/B bajo y con un score angiográfico alto indicativo de arteriopatía periférica severa. Por lo tanto, se puede inferir que los pacientes incluidos constituyen una población de alto riesgo de amputación mayor.

Se reconoce que el riesgo de amputación mayor en pacientes no diabéticos con claudicación es del 2% y se incrementa 3 veces en pacientes diabéticos con cuadro clínico de isquemia crítica (26). La no opción de revascularización convencional incrementa aun más el riesgo de amputación mayor.

De la población total 10/34 pacientes requirieron una amputación mayor, por progresión de las lesiones tróficas, siendo casi exclusivamente en pacientes pertenecientes al grupo C 9/18 que tenían indicación de amputación mayor previa al tratamiento propuesto. Se destaca que la amputación pudo ser evitada en 9/18 (50%) del resto los pacientes del grupo C. De los parámetros clínicos evaluado en los pacientes que requirieron amputación mayor: estadio clasificación Fontaine, dolor de reposo y lesiones tróficas no se observaron mejoría significativa, siendo el porcentaje aumento en el IT/B solamente del 8%.

Del análisis de los pacientes sin amputación, 24/34 pacientes con un seguimiento de 18 +/-13 meses, se observó una respuesta positiva en los parámetros clínicos como en el estadio de la clasificación de Fontaine del 88 -100%, dolor de reposo del 100% y cicatrización de lesiones tróficas del 81%-88%. En relación a las lesiones tróficas, es conocido que la evolución de las úlceras isquémicas y regeneración de tejido depende del aporte de oxígeno, nutrientes y mediadores solubles necesarios para una cicatrización adecuada (27). La respuesta de las lesiones tróficas, al tratamiento con medula ósea no fraccionada, muestra mejoría significativa en 9/11(81%) pacientes del Grupo B y 8/9 (88%) pacientes del Grupo

C siendo necesaria una amputación menor de dedos en 6 pacientes con una cicatrización óptima de las heridas quirúrgicas. Se postula que el tratamiento propuesto, con médula ósea autóloga no fraccionada, mejoraría la perfusión tisular y circulación arterial a través del desarrollo vasos colaterales.

La angiografía con substracción digital presenta algunas limitaciones, no se realizó una evaluación de los angiogramas por un laboratorio de excelencia independiente (Core Lab) y si bien se mantuvo una distancia tubo/intensificador constante, la fuerza de inyección del contraste puede variar de estudio a estudio con hallazgos diferentes en los vasos observados o en la circulación colateral. Teniendo en cuenta estas limitaciones, se observaron mejoría en circulación colateral o nuevos vasos el 50% de los pacientes.

Diferencias estadísticamente significativas fue observada en el IT/B de todos los grupos, lo cual es indicativo de un incremento de la circulación a nivel distal. El porcentaje de mejoría del Grupo A fue significativamente mayor que el Grupo B y C. Por lo tanto, los pacientes con claudicación limitante y sin opción de revascularización fueron los pacientes con mejor respuesta al tratamiento propuesto.

En la biopsia de piel a los 30 días se observó incremento en la microvasculatura, neoformación vascular (angiogénesis) e inmunohistoquímica de CD31+ indicativo de presencia de células progenitoras endoteliales. Estos hallazgos pueden ser considerados como un efecto biológico positivo de las células de la médula ósea resultando en un incremento de la circulación y perfusión tisular que permitió una cicatrización adecuada de las lesiones tróficas. Estudios inmunohistoquímicos futuros serán necesarios para evaluar comportamiento y permanencia en el tiempo de las células progenitoras endoteliales.

No se observaron cambios significativos de los parámetros de tolerancia y seguridad, siendo un procedimiento de bajo riesgo y corta internación.

En el seguimiento se observó una mortalidad en 4 pacientes (11%). Es reconocido que la enfermedad cardiovascular es la mayor causa de mortalidad en pacientes con arteriopatía periférica. La frecuencia anual de eventos cardiovasculares como infarto de miocardio, accidente cerebrovascular o muerte de causa cardiovascular

es del 5-7% (28). La mortalidad es aun mayor en pacientes diabéticos con amputacion mayor (15). La mortalidad observada en este estudio fue debida a eventos cardiovasculares y no relacionada al procedimiento o la administración de medula ósea.

De la recolección y análisis de datos concluyo que: “La administración de medula ósea autóloga no fraccionada vía intraarterial directa con oclusión transitoria al retorno venoso puede constituir una terapéutica factible, tolerable y segura en pacientes con arteriopatía periférica sin opción de revascularización convencional. Si bien el número de pacientes incluidos es reducido el tratamiento propuesto demuestra una eficacia terapéutica potencial que avalan estudios futuros con un número mayor de pacientes”.

TABLAS Y FIGURAS

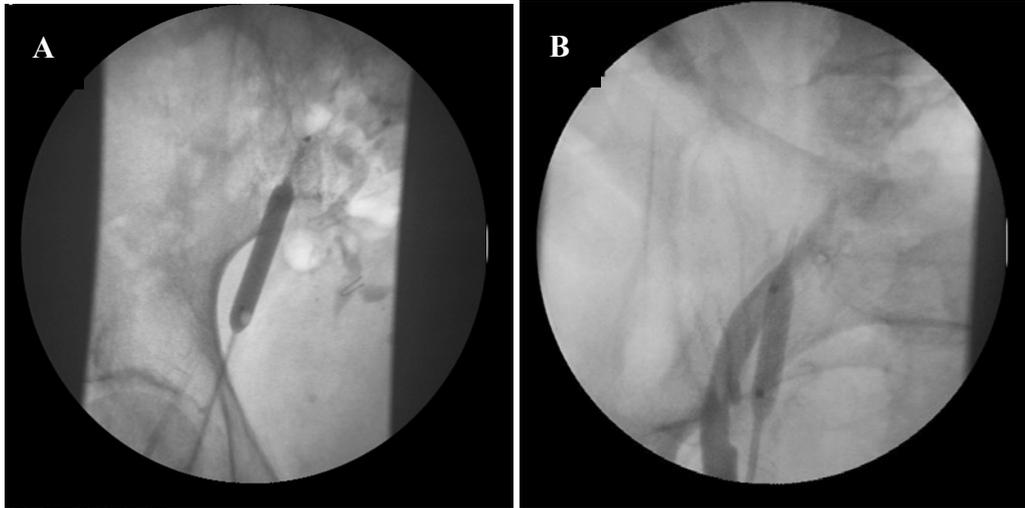


Figura 1. A: Cateterización de la arteria y vena femoral con oclusión de la vena iliaca externa. **B:** Inyección sustancia de contraste en arteria iliaca y oclusión vena iliaca.

Tabla 1

Datos Demográficos y características clínicas
Población general 34 pacientes

Características	Promedio +/- DS o Nro pac (%)
Edad	64 +/- 10
Sexo Masc	24 (70)
Diabetes	25(73)
Insulina	6(24)
Hipogluc oral	19(76)
Hipertensión	30(88)
Tabaco	19(55)
Dislipidemia	27(79)
Estadio Fontaine	
III	5(14)
IV	29(85)
Lesión trófica (ulceras)	30(88)
Dolor de reposo	27(79)
Índice Tobillo/Brazo reposo	0,42 +/- 0,15
Angiografía	
Score angiografico	10,5 +/- 2,7
Cantidad de oclusiones	72
Cantidad de obst significativas	35
Circulación colateral pobre	20(58)
Tratamiento previo	
By- pass y/o ATP	11(32)

By- pass y/o ATP se refiere a cirugía y/o angioplastia periférica con o sin stent.

Tabla 2
Datos Demográficos y características clínicas
Determinada por grupos

	Grupo A 4 pacientes	Grupo B 12 pacientes	Grupo C 18 pacientes
Edad	66 +/- 8	64 +/- 10	63 +/- 10
Sexo M	4 (100)	9 (75)	11(61)
Diabetes			
I	0	1(8)	5(27)
HO	0	7(58)	12(66)
HA	4 (100)	9 (75)	17 (94)
Tabaco	3(75)	8(66)	8(44)
Dislipidemia	3(75)	9(75)	15(83)
Fontaine			
III	4(100)	1(8)	0
IV	0	11(91)	18(100)
LT	0	12(100)	18(100)
Dolor Rep	0	10(83)	17(94)
IT/B	0,45 +/-0,13	0,50 +/-0,10	0,42 +/-0,18
Angiografía			
Score	10 +/- 2	10 +/-2,4	11+/- 3
Oc.	5	20	43
Ob.	10	14	16
CC-P	3(75)	6(50)	11(61)

Nº de paciente (%),promedio+/- DS, I insulina, HO hipoglucemiante oral ,HA hipertension,LT lesión trofica, I T/B índice tobillo-brazo, Oc. oclusiones Ob. obstrucciones, CC-P circulación colateral pobre.

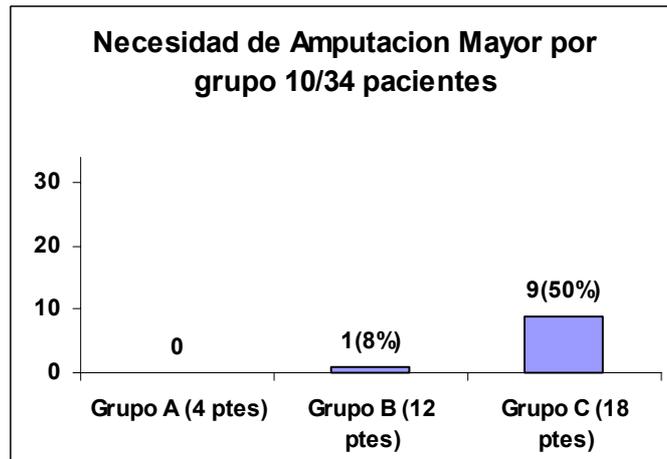


Figura 2. Necesidad de Amputación Mayor y frecuencia por grupos.

Clasificación de Fontaine								
	Grupo B (1 paciente)				Grupo C (9 pacientes)			
Estadio	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Basal				1				9
Seguimiento				1			1*	8

* Amputación mayor a los 6 meses

Figura 3. Estadio de la clasificación de Fontaine basal y seguimiento en pacientes con amputación mayor.

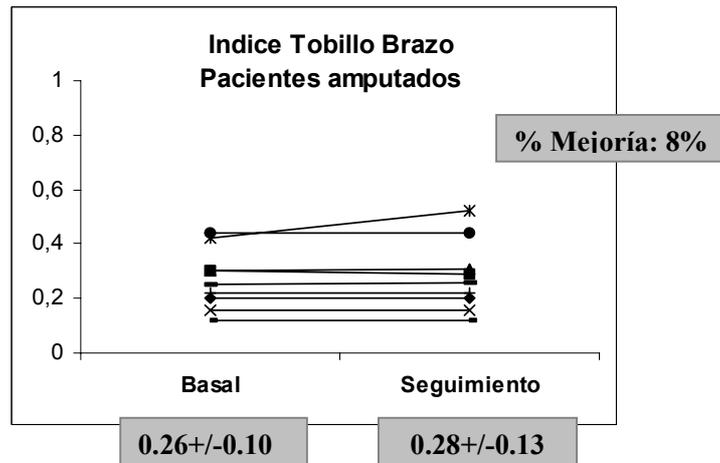


Figura 4. IT/B basal y seguimiento en pacientes con amputación mayor. Porcentaje de mejoría.

	Clasificación de Fontaine											
	Grupo A (4 pacientes)				Grupo B (11 pacientes)				Grupo C (9 pacientes)			
Estadio	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Basal			4			1	10					9
Seguim		4			2	8	1		2	6	1	
	100%				90%				88%			

Figura 5. Estadio en clasificación de Fontaine basal y seguimiento en pacientes sin amputación mayor. Frecuencia por grupos y porcentaje de mejoría.

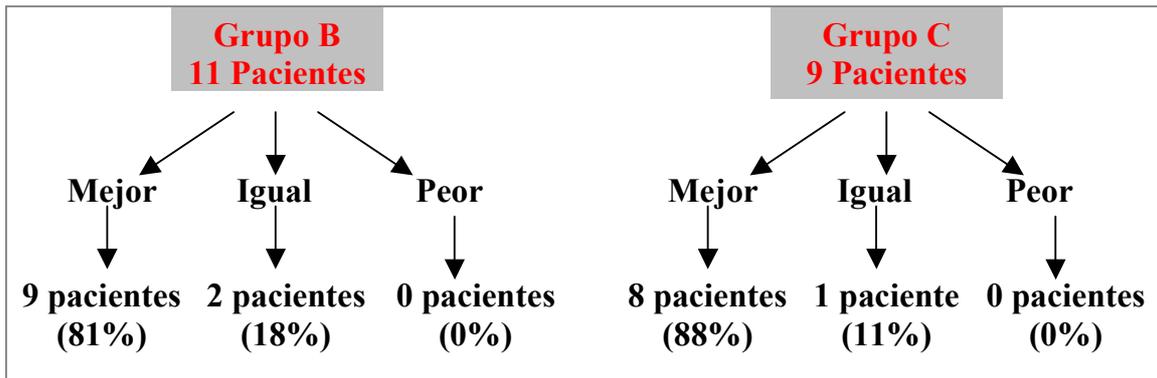


Figura 6. Lesiones tróficas en pacientes sin amputación basal y seguimiento. Frecuencia por grupo y porcentaje de repuesta.



Figura 7. Paciente del grupo C. **A:** Úlcera isquémica en el dorso del pie basal. **B:** 12 meses de seguimiento.



Figura 8. Paciente del grupo C. **A:** Lesión de pie basal. **B:** 24 meses de seguimiento.



Figura 9. Paciente del grupo C. **A:** Lesión basal post quirúrgica sin respuesta al tratamiento convencional. **B:** 24 meses de seguimiento.

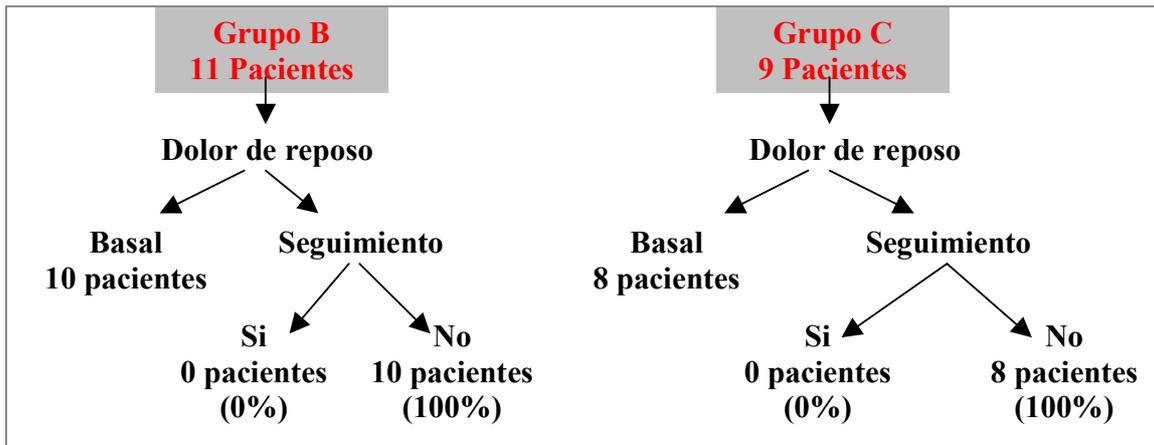


Figura 10. Dolor de reposo en pacientes sin amputación mayor. Basal y seguimiento. Frecuencia por grupo y porcentaje de repuesta.

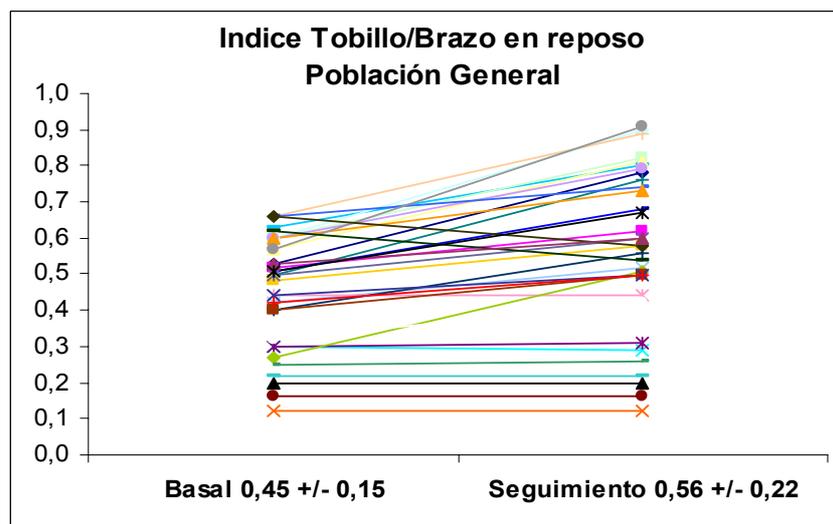


Figura 11. IT/B basal y seguimiento en la población general.

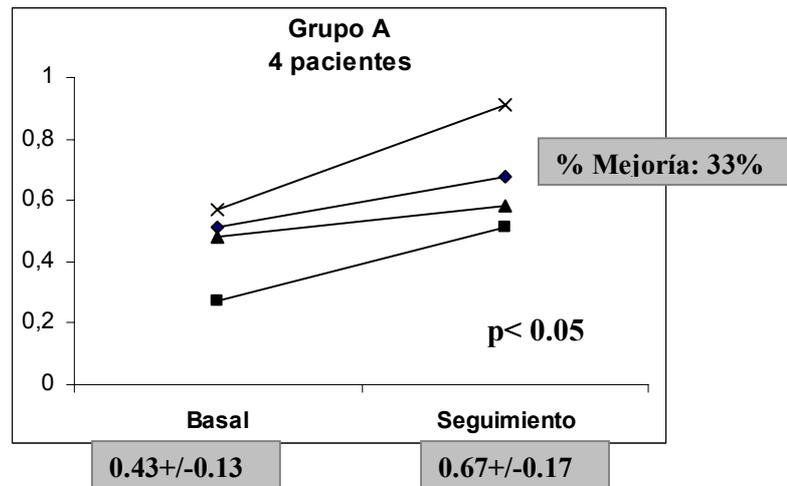


Figura 12. I T/B basal y seguimiento en pacientes sin amputación mayor. Porcentaje de mejoría.

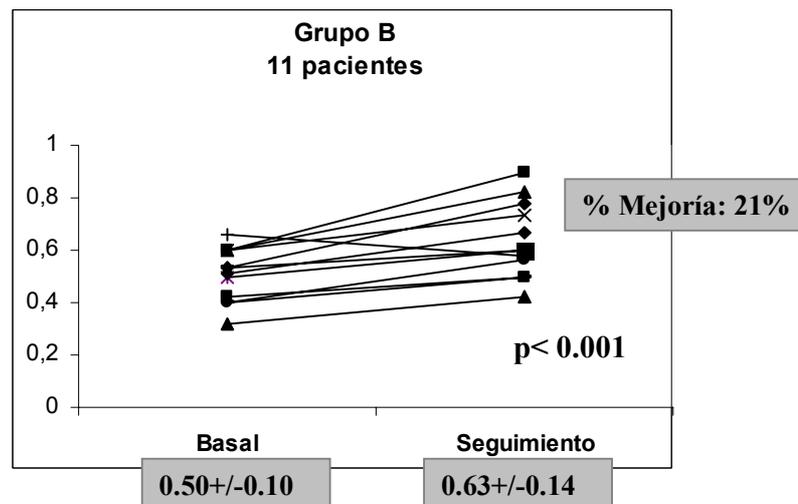


Figura 13. IT/B basal y seguimiento en pacientes sin amputación mayor. Porcentaje de mejoría

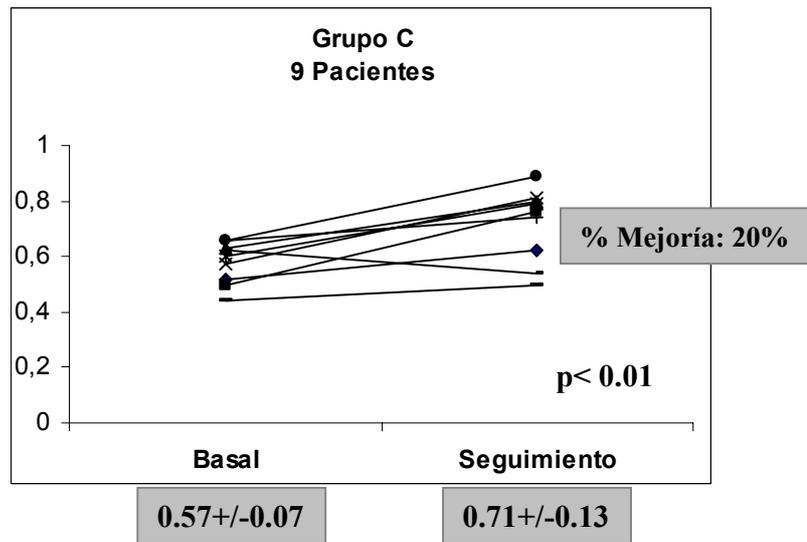


Figura 14. IT/B basal y seguimiento en pacientes sin amputación mayor. Porcentaje de mejoría.

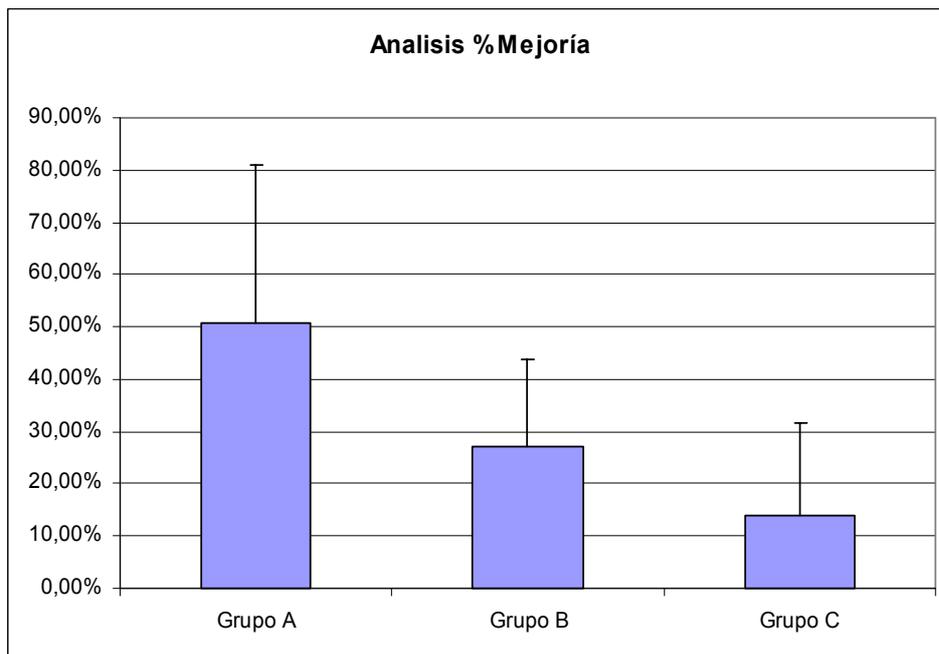


Figura 15. Análisis comparativo del porcentaje de mejoría en el IT/B entre los grupos. ($p < 0.05$)

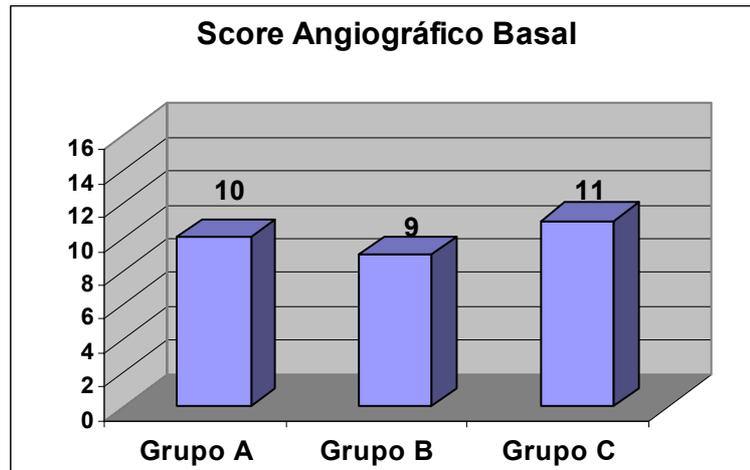


Figura 16. Score angiográfico por grupo.

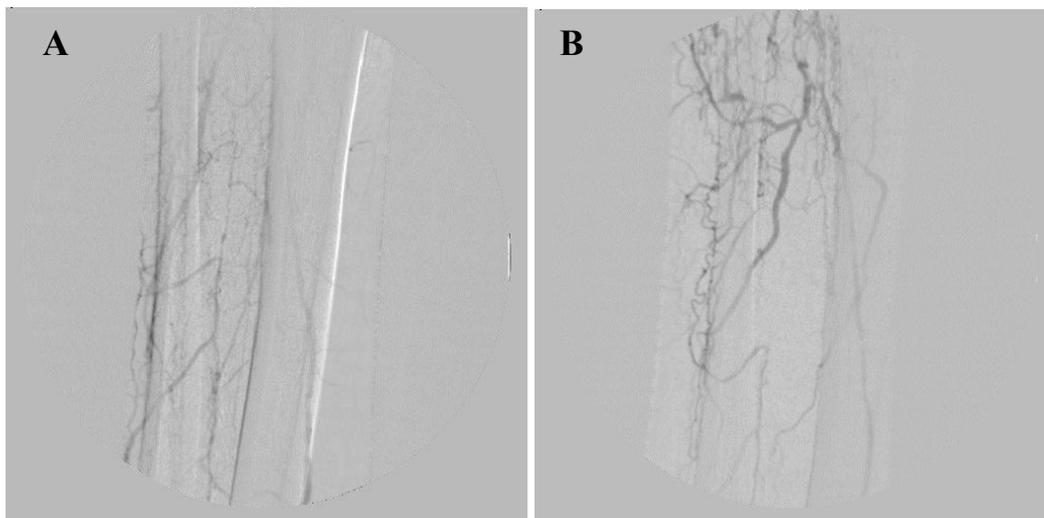


Figura 17: **A:** Angiografía con substracción digital basal. **B:** Angiografía con substracción digital seguimiento, muestra incremento de la circulación colateral.

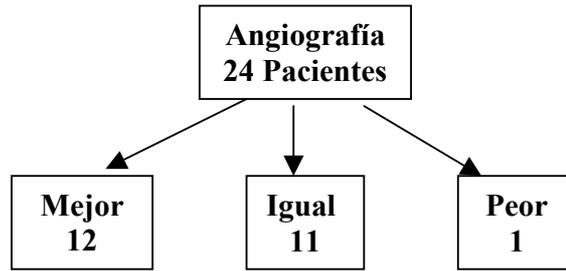


Figura 18. Angiografía en el seguimiento.

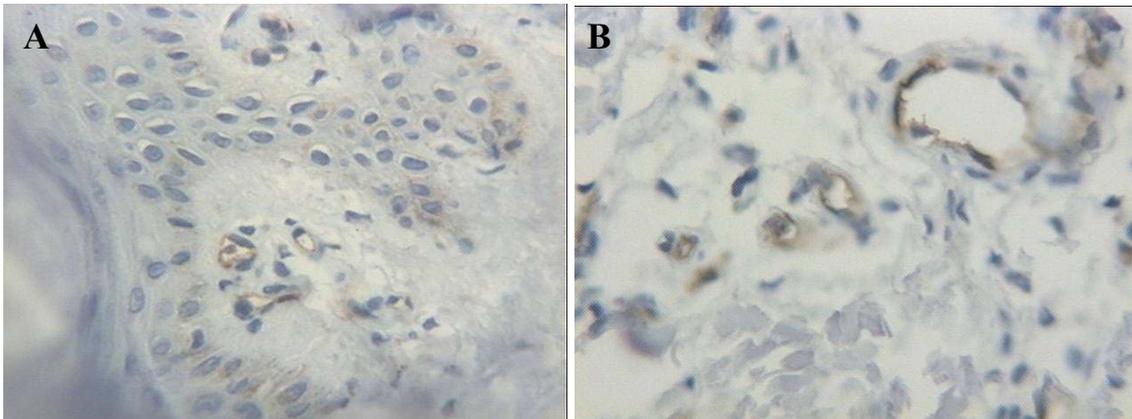


Figura 19. Biopsia de piel histomorfología y estudio inmunohistoquímico. **A:** Previa al tratamiento, muestra ausencia de capilares. **B:** 30 días después de administración de médula ósea, muestra neoformación vascular y células CD31+ (color marrón) 40X.

BIBLIOGRAFIA

- 1- Sigvant B, Wiberg-Hedman K, Bergqvist D, J Vasc Surg, A population-based study of peripheral arterial disease prevalence with special focus on critical limb ischemia and sex differences,. 2007 Jun;45(6):1185-91.
- 2- Selvin E, Erlinger TP. Prevalence of and risk factors for peripheral arterial disease in the United States: results from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2000. *Circulation* 2004;110:738-743.
- 3- Pasternak RC, Criqui MH, Benjamin EJ, et al. Atherosclerotic Vascular Disease Conference: Writing Group I: epidemiology. *Circulation* 2004;109:2605-2612.
- 4- Van Houtum WH, Lavery LA: Outcomes associated with diabetes-related amputations in the Netherlands and in the state of California, USA. *J Intern Med* 240:227–231, 1996.
- 5- Kald A, Carlsson E, Nilsson E: Major amputation in a defined population: incidence, mortality and results of treatment. *Br J Surg* 76:308–310, 1989.
- 6- Lavery LA, van Houtum WH, Armstrong DG, Harkless LB, Ashry HR, Walker SC: Mortality following lower extremity amputation in minorities with diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 37:41–47, 1997.
- 7- Faglia E, Favales F, Morabito A: New ulceration, new major amputation, and survival rates in diabetic subjects hospitalized for foot ulceration from 1990 to 1993: a 6.5-year follow-up. *Diabetes Care* 24:78–83, 2001.
- 8- Mayfield JA, Reiber GE, Maynard C, Czerniecki JM, Caps MT, Sangeorzan BJ: Survival following lower-limb amputation in a veteran population. *J Rehabil Res Dev* 38:341–345, 2001.

- 9- Dos Santos VP, da Silveira DR, Caffaro RA. Risk factors for primary major amputation in diabetic patients. Sao Paulo Med J. 2006 Mar 2;124(2):66-70.
- 10- Most RS, Sinnock P: The epidemiology of lower extremity amputations in diabetic individuals. Diabetes Care 6:87–91, 1983.
- 11- Siitonen OI, Niskanen LK, Laakso M, Siitonen JT, Pyorala K: Lower-extremity amputations in diabetic and nondiabetic patients: a population-based study in eastern Finland. Diabetes Care 16:16–20, 1993.
- 12- Trautner C, Haastert B, Giani G, Berger M: Incidence of lower-limb amputations and diabetes. Diabetes Care 19:1006–1009, 1996.
- 13- Van Houtum WH, Lavery LA: Outcomes associated with diabetes-related amputations in the Netherlands and in the state of California, USA. J Intern Med 240:227–231, 1996.
- 14- Chaturvedi N, Stevens LK, Fuller JH, Lee ET, Lu M: Risk factors, ethnic differences, and mortality associated with lower-extremity gangrene and amputation in diabetes: the WHO multinational study of vascular disease in diabetes. Diabetologia 44 (Suppl. 2):S65–S71, 2001.
- 15- Kapelrud H, Lower-limb amputations and diabetes, Tidsskr Nor Laegeforen. 2006 Sep 7;126(17):2261-3.
- 16- Faglia E, Favales F, Quarantiello A. Angiographic evaluation of peripheral arterial occlusive disease and its role as a prognostic determinant for major amputation in diabetic subjects with foot ulcers. Diabetes Care. 1998 Apr;21(4):625-30.

- 17- Isner M, Asahara T. Angiogenesis and vasculogenesis as therapeutic strategies for neovascularization. *J Clin Invest* 1999; 103: 1231-36.
- 18- Simons M, Bonow RO, Chronos NA, et al. Clinical trial in coronary angiogenesis: issues, consensus. *Circulation* 2000; 102: e73-89.
- 19- Vicario J, Piva J, Pierini A, Transcoronary sinus delivery of autologous bone marrow and angiogenesis in pig models with myocardial injury. *Cardiovasc Radiat Med.* 2002 Apr-Jun;3(2):91-4.
- 20- Vicario J, Campo C, Piva J, One-year follow-up of transcoronary sinus administration of autologous bone marrow in patients with chronic refractory angina. *Cardiovasc Revasc Med.* 2005 Jul-Sep;6(3):99-107.
- 21- Vicario J, Campos C, Piva J, Transcoronary sinus administration of autologous bone marrow in patients with chronic refractory stable angina Phase 1. *Cardiovasc Radiat Med.* 2004 Apr-Jun;5(2):71-6.
- 22- Kawamura A, Horie T, Tsuda I, Prevention of limb amputation in patients with limbs ulcers by autologous peripheral blood mononuclear cell implantation. *Ther Apher Dial.* 2005 Feb;9(1):59-63.
- 23- Gu Y, Zhang J, Qi L. A clinical study on implantation of autologous bone marrow mononuclear cells after bone marrow stimulation for treatment of lower limb ischemia. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.* 2006 Oct;20(10):1017-20.
- 24- Daisy F. Lazarous, MD* , Ellis F. Unger, MD*, Stephen E. Epstein, MD. Basic fibroblast growth factor in patients with intermittent claudication: results of a phase I trial. *J Am Coll Cardiol*, 2000; 36:1239-1244.

25- Eriko Tateishi-Yuyama, Hiroaki Matsubara. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial. *The Lancet* - Vol. 360, Issue 9331, 10 August 2002, Pages 427-435.

26- Kannel WB, Skinner JJ Jr, Schwartz MJ, Shurtleff D. Intermittent claudication: incidence in the Framingham Study. *Circulation* 1970;41:875-883.

27- Singer AJ, Clark RAF. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med* 1999;341:738-746.

28- Hirsch AT, Haskal ZJ, Hertzler NR, et al. ACC/AHA 2005 guidelines for the management of patients with peripheral arterial disease (lower extremity, renal, mesenteric, and abdominal aortic): executive summary a collaborative report from the American Association for Vascular Surgery/Society for Vascular Surgery, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society for Vascular Medicine and Biology, Society of Interventional Radiology, and the ACC/AHA Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Develop Guidelines for the Management of Patients with Peripheral Arterial Disease) endorsed by the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation; National Heart, Lung, and Blood Institute; Society for Vascular Nursing; TransAtlantic Inter-Society Consensus; and Vascular Disease Foundation. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:1239-1312.